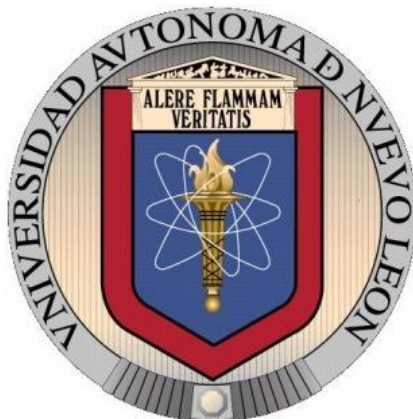


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**



**ANÁLISIS DE BIOCOMPATIBILIDAD DE DOS CEMENTOS DE  
SELLADO APICAL A BASE DE SILICATO DE CALCIO MEDIANTE LA  
EXPRESIÓN DE INMUNOMODULADORES**

**POR**

**TOMÁS HUMBERTO ARGÜELLO GUTIÉRREZ**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS  
EN EL ÁREA DE ENDODONCIA**

**SEPTIEMBRE 2016**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**



**ANÁLISIS DE BIOCOMPATIBILIDAD DE DOS CEMENTOS DE  
SELLADO APICAL A BASE DE SILICATO DE CALCIO MEDIANTE LA  
EXPRESIÓN DE INMUNOMODULADORES**

**POR**

**TOMÁS HUMBERTO ARGÜELLO GUTIÉRREZ**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS  
EN EL ÁREA DE ENDODONCIA**

**SEPTIEMBRE 2016**

**ANÁLISIS DE BIOCOMPATIBILIDAD DE DOS CEMENTOS DE SELLADO  
APICAL A BASE DE SILICATO DE CALCIO MEDIANTE LA EXPRESIÓN DE  
INMUNOMODULADORES**

**Comité de Tesis**

---

**DIRECTOR DE TESIS**  
**DR. JUAN MANUEL SOLÍS SOTO**

---

**CO-DIRECTOR DE TESIS**  
**DRA. FANNY LÓPEZ MARTÍNEZ**

**ANÁLISIS DE BIOCOMPATIBILIDAD DE DOS CEMENTOS DE SELLADO  
APICAL A BASE DE SILICATO DE CALCIO MEDIANTE LA EXPRESIÓN DE  
INMUNOMODULADORES**

---

**CD. MS. JORGE JAIME FLORES TREVIÑO**  
COORDINADOR DEL POSGRADO DE ENDODONCIA

---

**PhD. SERGIO EDUARDO NAKAGOSHI CEPEDA PHD**  
SUBDIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO DE LA  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
NUEVO LÉON

**ANÁLISIS DE BIOCOMPATIBILIDAD DE DOS CEMENTOS DE SELLADO  
APICAL A BASE DE SILICATO DE CALCIO MEDIANTE LA EXPRESIÓN DE  
INMUNOMODULADORES**

**APROBACIÓN DE LA TESIS**

LOS MIEMBROS DEL JURADO ACEPTAMOS LA INVESTIGACIÓN Y  
APROBAMOS EL DOCUMENTO QUE AVALA LA MISMA COMO REQUISITO  
PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN CIENCIAS  
ODONTOLÓGICAS EN EL ÁREA DE ENDODONCIA

**HONORABLES MIEMBROS DEL JURADO**

---

**PRESIDENTE**

**CD. MS.** Dr. Jorge Jaime Flores Treviño

---

**SECRETARIO**

Dr. Juan Manuel Solís Soto

---

**VOCAL**

Dr. Gustavo Israel Martínez González

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco antes que nada infinitamente a Dios por darme la oportunidad de alcanzar una meta que por tanto tiempo idealicé.

En segundo lugar agradezco a mis padres Tomás Argüello Chamorro y Gabriela Gutiérrez Prego que sin su apoyo moral, económico además de siempre inculcar el deseo de superación, lograron prepararme como individuo para siempre desear mas y sobrepasar cualquier obstáculo. Gracias por confiar y querer lo mejor para mi.

Correspondo de igual manera a mis hermanos “La Gaby” María Gabriela Argüello G. y “Tito” Ernesto A. Argüello G. que siempre han creído en mi, que con su apoyo y su carácter han podido alentarme a siempre buscar mas para así siempre ser su pilar y motivación de vida. Gracias por el cariño especial sin limites hacia mi persona y siempre postularse como los mejores hermanos que una hombre pueda tener.

Gracias a “La Madrina”, una persona especial, amiga de la familia además de siempre corresponder como una segunda madre que aunque no llevara nuestra sangre siempre a dedicado un apoyo absoluto.

Gracias a Adriana B. Peña Bolaños, que mas que eso es mi amiga incondicional que con sus afectos, detalles, comprensión, esfuerzos, confianza y sobre todo amor pudo siempre mantenerme con inteligencia en serenidad y ser además mi inspiración para siempre poder buscar la excelencia, entregar lo mejor de mi y ser un ejemplo a seguir.

Agradezco a todos mis maestros, al coordinador de este posgrado y padrino de mi generación el Dr. Jorge Jaime Flores Treviño, a mis asesores de Tesis y al todo el STAFF del Departamento de Endodoncia que sin cada uno de estos elementos mi preparación y formación académica además de personal jamás pudiera ser como la es hoy. Sin su entrega total para transmitir conocimientos de profesión y de vida sin egoísmo ni celos no pudiese salir al mundo con una preparación extraordinaria que me exhorta a siempre buscar la actualización y permanecer como un constante alumno.

Gracias a toda mi familia endodontica, a mis hermanos grandes y menores pero en especial a mis 5 endo-hermanos (3.14.16) que sin su energía, apoyo, amistad y sobre todo confianza, ni mis años, ni mi experiencia en la maestría hubiese jamás sido igual.

Gratifico al departamento de Histología por brindar su apoyo y microscopios para la toma de fotografías del proyecto. Por ultimo no dejare de mencionar a la colaboración del departamento de Fisiología donde con sus locuras y entrega el Dr. Juan Manuel Solís S. logro poderme apoyar incondicionalmente para realizar este proyecto tan valioso.

## DEDICATORIA

Dedico mi trabajo de investigación a mi mami, Gabriela Gutiérrez Prego por su incondicional apoyo durante mi vida, en especial en el transcurso de mi estancia en Monterrey, México donde he cursado mi preparación como odontólogo y mi Maestría en Ciencias Odontológicas en el Área de Endodoncia. Prometimos juntos sacar adelante mi profesión y por el momento culminamos una etapa de aprendizaje tan importante en mi vida que juntos logramos realizar para un futuro prometedor y sin barreras. **WE DID IT!**



## ÍNDICE /TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
Agradecimientos.....	V
Dedicatoria.....	VII
Lista de Tablas.....	VIII
Lista de Figuras.....	X
Resumen.....	XI
Abstrac.....	XII
1 Introducción.....	1
2 Antecedentes.....	3
2.1 Cementos Selladores.....	4
2.2 Biocompatibilidad.....	4
2.2.1 Pruebas de Biocompatibilidad.....	5
2.3 MTA.....	5
2.4 Biodentine.....	7
2.5 Técnicas Histológicas.....	7
2.5.1 Hematoxilina y Eosina.....	8
2.5.2 Tricrómico de Masson.....	8
3 Marco de Referencia.....	10
4 Hipótesis.....	12
5 Objetivo.....	13
5.1 Objetivo General.....	13
5.2 Objetivos Específicos.....	13
6 Materiales y métodos.....	14
7 Resultados.....	21
7.1 Hematoxilina y Eosina; Tricrómico de Masson.....	21
7.2 Inmunomoduladores .....	25
7.3 Análisis Estadístico.....	29
8 Discusión.....	31

9 Conclusiones.....	34
10 Referencias Bibliográficas.....	35

**Nombre:** Tomás Argüello Gutiérrez

**Fecha de Graduación:** Julio 2016

**Universidad Autónoma de Nuevo León**

**Facultad de Odontología**

**Maestría en Ciencias Odontológicas en el área de Endodoncia**

**Páginas:**

**Título del Estudio: ANÁLISIS DE BIOCOMPATIBILIDAD DE DOS CEMENTOS DE SELLADO APICAL A BASE DE SILICATO DE CALCIO MEDIANTE LA EXPRESIÓN DE INMUNOMODULADORES**

## **RESUMEN**

**Introducción:** Cuando una lesión en el área apical es persistente y la pieza dental no ha respondido a un tratamiento o retratamiento convencional del conducto radicular la cirugía apical está indicada. En dicho tratamiento es de suma importancia la correcta selección del material para la re-obturación, ya que éste estará en contacto con los tejidos periapicales por lo consiguiente deberá presentar una excelente biocompatibilidad.

**Objetivos:** Evaluar la biocompatibilidad de Mineral Trióxido Agregado (MTA) y Biodentine mediante la expresión de inmunomoduladores.

**Materiales y Métodos:** Se utilizaron 16 ratones de la especie *Mus Musculus*, se inocularon los cementos en la piel de la región dorsal del ratón. Se recolectaron muestras a las 24 horas y a los 7 días, las cuales fueron teñidas con Hematoxilina & Eosina y Tricrómico de Masson para evaluar la respuesta inflamatoria, así como la presencia de Somatostatina y sustancia P por medio de una expresión de Inmunocitoquímica.

**Resultados:** Estadísticamente no se encontró diferencia ( $p > 0.05$ ) en el grado de inflamación entre los dos cementos, aunque se presentó ligeramente menos reacción inflamatoria con Biodentine. En comparación con MTA, Biodentine mostro casi nula presencia de células inflamatorias a las 24h y 7 días. Similarmente no se encontró diferencia en la expresión de Somatostatina y sustancia P entre de ambos cementos.

**Conclusiones:** Biodentine se presenta como el material promesa para los procedimientos dentales clínicos por su buena biocompatibilidad presentada, convirtiéndose en interesante alternativa al MTA. Por supuesto, aún es necesario realizar más estudios acerca de citotoxicidad, actividad antimicrobiana y capacidad de sellado.

**Director de Tesis:** Dr. Juan Manuel Solís Soto

**Co-Director de Tesis:** C.D. Fanny López Martínez

## ABSTRACT

**Introduction:** When an injury in the apical area is persistent and the tooth has not responded to conventional treatment or retreatment of the root canal apical surgery is indicated. In such treatment it is important the correct choice of material for re-sealing, since it will be in contact with the periapical tissues so therefore should have an excellent biocompatibility.

**Objectives:** To evaluate the biocompatibility of Mineral Trioxide Aggregate (MTA) and Biodentine by analyzing the expression of immunomodulatory.

**Materials and Methods:** 16 mice (*Mus Musculus*) were inoculated with the dental sealers in the skin of the back. Samples at 24 hours and 7 days were collected, and stained with hematoxylin eosin and Masson's trichrome to evaluate the inflammatory response and also carried out to evaluate the Technical inflammatory response, and also the presence of immunoreactivity cells to somatostatin and substance P.

**Results:** Although there was no difference in the inflammatory response to both sealers, Biodentine showed only a slight presence, compared with MTA. Biodentine showed almost no presence of inflammatory cells at 24h and 7 days. Similarly, there was not difference in the expression of somatostatin and substance P between both dental sealers.

**Conclusions:** Biodentine is running as the promise material for clinical dental procedures for its good biocompatibility, brought into interesting alternative to MTA, nevertheless, it is necessary more studies about cytotoxicity, antimicrobial activity and sealing capacity.

## 1. INTRODUCCIÓN

El éxito del tratamiento endodóntico depende de una combinación de instrumentación apropiada, irrigación eficaz y la obturación de los conductos radiculares hasta la porción apical.

Es bien conocido que la aparición post tratamiento, o la persistencia de lesión periapical, es el indicio principal de fracaso del tratamiento endodóntico. La etiología de la misma es la limpieza y desinfección inadecuada del espacio del conducto radicular durante la terapia inicial de conducto, o una nueva contaminación de todo el espacio del conducto radicular después del tratamiento debido a un sello coronal pobre. Los microorganismos mayormente encontrados en estos casos son cocos, bacilos y filamentos.

Cuando una terapia endodóntica no responde al tratamiento, ni tampoco se ante un re-intento del mismo, la cirugía periapical o apicectomía, es el recurso mejor empleado antes de tener que realizar una extracción del órgano dental. El procedimiento de apicectomía se define como el corte de la raíz de los últimos 3mm apicales además, del rellenado y sellado de la raíz restante con un material biocompatible.

El Mineral Trióxido Agregado (MTA) es el material más empleado para obturación retrógrada, debido a sus propiedades que fortalecen el sellado: y esto ha sido demostrado en muchos casos y con un tiempo de éxito de muchos años.

Sin embargo, varias de las desventajas del MTA son la engorrosa manipulación de este material, así como su prolongado tiempo de trabajo y la necesidad de tener un ambiente húmedo para su fraguado. Otra de las desventajas del MTA es su cuestionable biocompatibilidad. La biocompatibilidad es, por definición, una medida de cómo un compuesto farmacológicamente inerte diseñado para ser implantado o incorporado dentro del sistema vivo es compatible con un sistema biológico. La importancia de la realización de pruebas de biocompatibilidad es determinar la aptitud de un material para uso humano,

y para ver si el uso del componente puede tener efectos fisiológicos potencialmente dañinos.

En el año 2009 se publicaron las primeras investigaciones de Biodentine como una alternativa de cemento sellador proponiendo que es muy similar a la de agregado de trióxido mineral y que podría ser un material de restauración por su resistencia a la compresión en comparación así a un material de restauración establecida. Su manipulación crea una manera fácil de trabajar en el campo operatorio con un tiempo de fraguado de sólo 10 minutos. Sus diferentes usos extienden mas campos operatorios. Ventajas como adhesión para eliminar filtrado microbiano además de un 0% de contracción lo hace un material confiable a largo plazo. En la mayoría de procedimientos su cantidad excesiva de material en su única presentación ha sido una desventaja. Biodentine es el primer material que ofrece bioactividad y unas extraordinarias propiedades de sellado para sustituir totalmente la dentina, tanto a nivel coronario como radicular, con beneficios únicos como la prevención y tratamientos de fallos clínicos.

De esta manera surge este estudio que ayuda a analizar estos dos diferentes tipos de cementos y realizar una comparativa entre Biodentine y MTA. Reflejando que los nuevos cementos selladores como el Biodentine presentan una buena alternativa, en la biocompatibilidad, al MTA.

## 2. ANTECEDENTES

Un correcto tratamiento endodóntico está basado por una secuencia de factores que se relacionan entre sí y que culminan con una adecuada rehabilitación de la pieza dentaria con la finalidad de restituir su función. Desde el punto de vista del paciente, un tratamiento endodóntico exitoso consiste en la ausencia de síntomas y que la pieza dental tratada permanezca estética y funcional en su boca, sin embargo, la literatura endodóntica propone evaluar el éxito del tratamiento mediante parámetros sintomáticos, radiográficos e histológicos (Wang H et al., 2014).

Es importante considerar que existe una relación directa entre la condición física del paciente, la capacidad del profesional y los criterios de funcionalidad requeridos. El conocimiento profundo y el constante estudio de los avances de la endodoncia son factores esenciales durante el ejercicio profesional (Hilú y Balandrano, 2009).

La enfermedad pulpar es una de las patologías más frecuentes dentro de la práctica clínica, y puede llevar a la pérdida de vitalidad del diente (Sedgley, 2004). Al realizar un tratamiento adecuado reducimos el porcentaje de riegos de una reinfección. Cuando la lesión no sede ante los tratamientos previos mencionados recurrimos a la amputación de una parte de la raíz o raíces comprometidas que esta se realiza en los últimos 2-3 mm de la porción apical del la pieza (Cambra, 1996).

Cuando atendemos el tratamiento quirúrgico que implica una obturación retrógrada debemos conseguir una microcirugía apical, que combina la amplificación y la iluminación proporcionada por el microscopio con el uso adecuado de micro instrumentos, puede tratar los dientes con enfermedades periapicales precisamente persistentes y menos traumática con una alta tasa de éxito (Wang H. et al., 2014). La selección de casos y operaciones estandarizadas juegan un papel clave para el éxito.

Un componente integral de procedimiento apicectomía es la colocación de un material de relleno de la porción apical de la raíz. Grossman y colaboradores en una revisión de literatura de los últimos 20 años identificaron al menos 19 materiales diferentes que se

han utilizado como materiales de relleno apical. Desafortunadamente, el material ideal para este propósito aún no se ha encontrado (Cohen et. al., 2004; Rhodes, 2006).

IRM y MTA son los materiales más adecuados, y dan mejores resultados en los procedimientos apicectomía. El MTA da mejores resultados en las pruebas de biocompatibilidad que el IRM aunque ambos tiene la capacidad de inducción de tejido duro (Grossman I et al., 2003).

Una posible desventaja que impide MTA de ser aceptable como "el material de relleno de la raíz de gama ideal» es un tiempo de fraguado de largo que pueden dar lugar a desprendimiento o deformación de la preparación final de la raíz. Sin embargo, en la mayoría de los casos MTA sirve como la mejor opción para un material de sellado apical. (Cohen et. al., 2004; Enkel el. al., 2008).

## **2.1 Cementos Selladores**

La exposición prolongada de la dentina radicular de hidróxido de calcio altera la resistencia a la fractura de la dentina. materiales a base de silicato de calcio (CAMs) utilizados en endodoncia liberan hidróxido de calcio sobre la configuración. Este estudio examinó si el contacto prolongado de la dentina con los CSM afecta negativamente a sus propiedades mecánicas (Allen et. al, 2012). Tanto CSM alteran tenacidad del material más que la resistencia y la rigidez de la dentina después del envejecimiento en 100% de humedad relativa. Debido a la dureza de la dentina se atribuye a su matriz de colágeno, la cantidad de colágeno extraído de la dentina mineralizada y cambios en la ultra-estructura de colágeno debe examinarse más después de la exposición de la dentina a MCS (Allen et. al, 2012).

## **2.2 Biocompatibilidad**

Biocompatibilidad es, por definición, una medida de cómo un dispositivo es compatible con un sistema biológico. El propósito de la realización de pruebas de biocompatibilidad



es determinar la aptitud de un dispositivo para uso humano, y para ver si el uso del dispositivo puede tener efectos fisiológicos potencialmente dañinos. Según lo declarado por la Organización Internacional de Estándares (ISO):

"El objetivo principal de esta parte de la norma ISO 10993 es la protección de los seres humanos de los posibles riesgos biológicos derivados de la utilización de los dispositivos médicos." (ISO 10993-1: 2009) (Alaina et. al., 2012).

### **2.2.1 Pruebas de Biocompatibilidad**

En un estudio in vitro se comparó la citotoxicidad de mineral trióxido agregado (MTA), mezcla enriquecida con calcio (CEM) de cemento, Biodentine (BD) y fosfato octacálcico (OCP) en las células madre de la papila apical humana (SCAP).

La citotoxicidad de los cuatro materiales no fue significativamente diferente de la del grupo control a las 24, 48 y 168 h ( $P > 0,05$ ). -Dos por dos comparación reveló que la citotoxicidad de MTA y cemento CEM fue significativamente diferentes entre sí a las 168 h ( $P < 0,05$ ), aunque la citotoxicidad de CEM fue de menos de MTA. Citotoxicidad de OCP y MTA también fue significativamente diferente de la otra a las 48 h y OCP tenía biocompatibilidad más favorable que el MTA ( $P < 0,05$ ).

CEM, OCP, BD y MTA mostraron biocompatibilidad aceptable cuando se expone a SCAP. Con el tiempo, CEM mostró la menor citotoxicidad entre los materiales en estudio (Saber E, 2016).

MTA y Biodentine mostraron una buena biocompatibilidad en contacto con los osteoblastos humanos y las células del ligamento periodontal. Con respecto a la supervivencia y la proliferación celular en particular de las células PDL Biodentine mostró buenos resultados y se puede considerar como un material bioactivo de endodoncia bien tolerado (Jung S et. al, 2014).

### **2.3 MTA (AGREGADO DE TRIÓXIDO MINERAL)**

Agregado de trióxido mineral (MTA) es un cemento a base de silicato de calcio (CSC) que se utiliza comúnmente en los procedimientos de endodoncia que implican la regeneración de la pulpa y la reparación de tejidos duros, tales como el recubrimiento pulpar, pulpotomía, apexogénesis, apexificación, reparación de perforación y llenado del extremo radicular. A pesar de ser superior en pruebas de laboratorio y de tener un rendimiento clínico mejor, el MTA en comparación con los cementos de reparación de endodoncia anteriores, tales como  $\text{Ca(OH)}_2$ , el MTA tiene pobres propiedades de manejo y un largo tiempo de fraguado. Nuevos CSC se han lanzado y comercializado para superar las limitaciones del MTA( Dawood AE et. Al, 2015).

El MTA es una forma refinada del compuesto original, cemento Portland (PC). Demuestra una fuerte naturaleza biocompatible debido al alto pH y su capacidad para formar hidroxiapatita; proporciona un mejor sellado que los materiales de endodoncia tradicionales en los que se observa filtración de colorantes y otros líquidos, pérdida de proteínas y los estudios demuestran que hay penetración de bacterias, además de que se ha reconocido como un material bioactivo. En la actualidad una gran variedad de productos comerciales de MTA están disponibles, incluyendo ProRoot MTA Gris y MTA Blanco tanto de Dentsply Tulsa Especialidades Dentales , y el MTA Angelus (Malhotra N, 2013).

Está compuesto principalmente de silicato tricálcico, aluminato tricálcico, óxido de bismuto, lo que lo hace un cemento de endodoncia particular. Está hecha de partículas finas hidrófilas que se endurecen en presencia de humedad o la sangre. Es biocompatible, opaco a la radiación y es más difícil de infiltrar, en comparación con los materiales clásicos de la raíz de relleno, tales como amalgama, Super-EBA, e IRM. Los estudios y cortes en resina de ápices obturados de amalgama, IRM, Super-EBA y MTA, así como pruebas de microfiltración han demostrado que la MTA tiene excelentes capacidades de sellado. Se requiere un tiempo de trabajo de alrededor de 5 min y un tiempo de endurecimiento que varía de 2 h y 45 min a 4 h de acuerdo con la densidad del aire atrapado durante la mezcla y la humedad del lugar de recepción. El

tiempo de endurecimiento largo reduce las tensiones internas y la incidencia de la infiltración marginal, pero obliga a llenar definitivamente el diente en la siguiente sesión, con un intervalo de al menos 3 días de la aplicación MTA. (Casella G, 2006).

## **2.4 Biodentine**

Biodentine es un material a base de silicato de calcio que ha llamado la atención en los últimos años y se ha recomendado para ser utilizado en diversas aplicaciones clínicas, tales como perforaciones radiculares, apexificación resorciones, rellenos retrógradas, procedimientos de recubrimiento pulpar, y la sustitución de la dentina. Ha habido una considerable investigación realizada en este material desde su lanzamiento; Sin embargo, es escaso el número de artículos de revisión que cotejen la información y los datos obtenidos de estos estudios. Biodentine es el material fundamental del tratamiento de la pulpa y el artículo se finalizó con el resumen de algunos informes de casos donde se ha utilizado el material (Malkondu Ö, 2014).

Las características biomecánicas del Biodentine, sus efectos de un radio pacificador, componentes líquidos, el grabado ácido y bioactivación en fluido corporal simulado se investigaron mediante la medición de la microdureza, inclinación de descarga demostrando que el Biodentine es un material de primera línea con una alta microdureza (Antonijević D, 2016).

Biodentine (Septodont, St-Maur-des-Fossés, Francia) es un nuevo material adecuado para diversas situaciones clínicas en endodoncia, como la reparación de una perforación, relleno retrógrado, recubrimiento pulpar, y otros. Debido a que es un material nuevo, sus propiedades deben ser analizados antes de su uso clínico de rutina. Por lo tanto, este estudio evaluó la biocompatibilidad de Biodentine en el tejido subcutáneo de ratas. Biodentine era biocompatible con el tejido después del día 14 (Mori GG et. Al, 2014).

## **2.5 Técnicas Histológicas**

Todo organismo vivo (animal o vegetal) esta constituido por células. Un individuo puede estar formado por una sola célula (organismo unicelular o protozoario o por muchas células (organismo pluricelular).

En estas páginas dedicadas a las técnicas histológicas vamos a describir los procesos experimentales necesarios para obtener secciones teñidas y listas para observar al microscopio partiendo de tejidos vivos extraídos de un animal o de una planta. Por tanto, dedicaremos espacios a la **obtención, fijación, inclusión, corte y tinción de los tejidos**. Todos estos apartados seguirán el mismo esquema que los capítulos dedicados a los tejidos o a la célula, partir de un esquema básico y ampliar la información sucesivamente en páginas adicionales. No dedicaremos demasiado espacio a los instrumentos, desde el punto de vista operativo, pero sí a la conveniencia de su uso y a sus capacidades (Atlas de Histología Vegetal y Animal 2014).

### **2.5.1 Hematoxilina y Eosina**

La mayoría de las células y matrices extracelulares no poseen un color propio por lo que su observación directa al microscopio óptico no permite observar sus características morfológicas. Para poder observarlos se emplean colorantes, sustancias dotadas de color que se unen de manera más o menos específica a determinadas estructuras del tejido.

Las tinciones generales se usan habitualmente en los laboratorios de histología para obtener una visión general de las muestras de tejido. Normalmente combinan más de un colorante. La tinción más común es la que combina una sustancia como la hematoxilina y el colorante ácido eosina. La colocación de Hematoxilina y Eosina se considera como la técnica de tinción de uso más frecuente en el estudio de células y tejidos a través del microscopio fotónico (Atlas de Histología Vegetal y Animal 2014).

### **2..5.2 Tricrómico de Masson**

Como su nombre indica esta tinción emplea tres colorantes, hematoxilina, fucsina y verde luz. Esta tinción es muy útil para poner de manifiesto las fibras de colágeno, y el conectivo en general, respecto a otros tipos celulares como el músculo o epitelios. Se

emplea mucho en la diagnosis de procesos tumorales. (Atlas de Histología Vegetal y Animal 2014).

Primeramente, se tiñen las secciones con un tinte ácido tal como la Escarlata de Biebrich. Todos los tintes acidófilos del tejido tales como el citoplasma, el músculo y el colágeno se unirán a los tintes ácidos. Las secciones entonces se tratan con ácido fosfotúngstico y/o fosfomolibdicos.

Ya que el citoplasma es mucho menos permeable que el colágeno, los ácidos fosfotúngsticos y fosfomolibdicos permiten que la Escarlata de Biebrich difunda del colágeno pero no del citoplasma. Los ácidos fosfotúngsticos y fosfomolibdicos tienen numerosos grupos ácidos que probablemente actúen como medio de unión entre el colágeno y el azul de Alanina. Como resultado se obtendrá que las fibras de colágeno se teñirán de azul y de color rojo la queratina, los glóbulos rojos y el tejido muscular (Montalvo, 2010).

### 3. MARCO DE REFERENCIA

El uso de técnicas de microcirugía es superior en lograr tasas altas predecible de éxito de la cirugía del extremo radicular cuando se compara con las técnicas tradicionales (Setzer F., et. al, 2010).

El éxito del tratamiento de conductos o el tratamiento endodóntico depende de múltiples factores. Un resultado favorable y/o exitoso del tratamiento de conductos radiculares se define como la reducción de la lesión radiológico y la ausencia de síntomas clínicos del diente afectado después de un periodo de observación mínimo un año (Waltimo, 2005).

La toma de decisiones preoperatoria es vital para determinar el potencial de éxito de la cirugía periapical. Para una adecuada exposición de la región apical de la raíz es el más abordado por una incisión de tipo surco. Los procedimientos quirúrgicos incluyen la resección de 2 a 3 mm de la parte apical a lo largo de la preparación extremo radicular y el sellado. El cirujano debe decidir si está indicada enviar la muestra de los tejidos periapicales para su análisis histopatológico (Lieblich S., 2015).

El colocar en los conductos radiculares materiales ya sea directamente sobre los tejidos periapicales vitales o indirectamente puede filtrarse a través de la dentina. La respuesta de los tejidos a estos materiales por lo tanto, llega a ser importante y puede influir en el resultado del tratamiento endodóntico (Hauman C, Love R, 2003).

Hay una regresión significativa en la reacción inflamatoria en las cápsulas que indica, por tanto, que Biodentine es un material biocompatible (Da Fonseca T., et. al, 2016). Esto también fue descubierto por investigadores en un estudio de microfiltración cuando la microfiltración estaba presente en todas las muestras. Menor cantidad de colorante apical se observó en Biodentine con valor medio de 0,16 mm seguido de ProRoot MTA de 0,68 mm, 0,74 mm MTA Angelus, y GIC 1,53 mm. La mejor capacidad de sellado se observó en Biodentine, y esta diferencia fue estadísticamente significativa (Sakshi M., 2015).

El objetivo de un estudio realizado por Rouhani et. al. en el 2016, fue evaluar in vitro la decoloración de los dientes inducida por la mezcla enriquecida en calcio (CEM) agregado de cemento y mineral trióxido (MTA). Se encontró que no hubo diferencias significativas entre el grupo de CEM y el grupo control en la decoloración media. La decoloración de los dientes media en el grupo de MTA fue significativamente mayor que la CEM y el grupo control ( $P < 0,05$ ).

También realizando un estudio comparativo in vitro se comparó los efectos del agregado de trióxido mineral (MTA), calcio mezcla enriquecida (CEM) de cemento, Biodentine (BD) y fosfato octacálcico (OCP) en la posibilidad de los fibroblastos gingivales humanos (HGF).

Se demostró una diferencia significativa las 168 horas entre el MTA ( $P < 0,05$ ) y Biodentine ( $P < 0,01$ ) y el grupo control. Por lo que se concluye que la citotoxicidad de MTA, CEM, Biodentine y OCP contra HGF fue similar a la del grupo de control a 24 Y 48 horas. Sin embargo con el tiempo, MTA y Biodentine exhiben menos citotoxicidad que otros materiales (Saber et. al. 2016).

Vidal et. al. en el 2016 recién demostraron que los materiales tales como pasta de hidróxido de calcio y el agregado de trióxido mineral se utilizan en el tratamiento apexificación de los dientes permanentes inmaduros, pero buscando materiales mejorados con características superiores en resultados de biocompatibilidad se encontró que Biodentine que es un cemento de silicato tricálcico posee características de manejo adecuadas y las propiedades mecánicas y de bioactividad aceptables. El resultado clínico y radiográfico favorable en muchos casos demostró que Biodentine puede ser una alternativa eficaz a los materiales convencionales de apicoformación por su alta biocompatibilidad.

#### **4. HIPÓTESIS**

El cemento sellador MTA tiene mejor biocompatibilidad, medido mediante la respuesta inflamatoria y la expresión de inmunomoduladores, que el Biodentine.



## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 Objetivo General:**

Evaluar la biocompatibilidad in situ de los cementos de sellado apical MTA y Biodentine mediante el análisis de la reacción inflamatoria y la expresión de inmunomoduladores.

### **5.2 Objetivos Específicos:**

- Comparar la reacción inflamatoria inducida por los cementos MTA y Biodentine.
- Analizar la presencia in situ de Somatostatina y substancia P en respuesta a la inoculación de los cementos MTA y Biodentine.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron muestras de la piel dorsal de 16 ratones de la especie *Mus Musculus* de 8 semanas de nacidos. Fueron divididos en cuatro grupos para evaluar la biocompatibilidad presentada a las 24 horas y a los 7 días.

Para poder ser incluidos en este estudio los ratones debieron cumplir con los requisitos que rige la NOM-062-ZOO-1999, la cual señala las técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Los ratones son ideales para la experimentación, porque los tienen todo. Son pequeños y manejables, tranquilos y nada agresivos, y su periodo de gestación es de sólo 20 días. Además, su genoma resulta muy parecido al humano, especialmente el sistema inmunitario (Miyata K, 2016). Las técnicas de ingeniería genética han echado el resto, ya que gracias a ellas es posible provocarles numerosas dolencias similares al nuestro.

### 6.1 Descripción del Procedimiento.

Inoculación de los cementos: cada ratón por separado fue anestesiado con una mezcla de ketamina/xilacina (35 mg/Kg / 5 mg/Kg de peso). Una vez que el ratón estuviera anestesiado se procedió a la inoculación de los cementos en cada ratón, siendo conformado cada uno de los cuatro grupos por 4 ratones, 1 grupo control de agua destilada y 2 grupos experimentales de MTA y Biodentine. Los cementos fueron preparados de acuerdo a las instrucciones del fabricante, fueron diluidos en agua destilada para facilitar su colocación dentro del tejido de la parte dorsal de cada ratón. Habiendo realizado la inoculación de cada cemento se colocó un punto de color sobre la piel donde fue realizada la punción, para poder ser localizada el área con más facilidad cuando se llevó a cabo la toma de muestra.

#### 6.1.2 Toma de muestras

Antes de llevar a cabo la toma de muestra se procedió a rasurar la parte dorsal, la cual había sido previamente marcada con un plumón.

A las 24 horas y 7 días de haber realizado la inoculación de los cementos, se sacrificaron a dos ratones de cada grupo, esto se realizó mediante la dislocación cervical de cada uno de ellos.

Para llevar a cabo la toma de la muestra se cortó la zona en donde se realizó la inoculación del cemento.

Después de haber sido recolectada cada muestra fue colocada en un frasco de vidrio el cual contenía formaldehído al 10% para ser fijadas.

### 6.1.3 Técnica Histológica de Parafina

Después de que las muestras fueron fijadas con formalina al 10%, se comenzó el proceso de inclusión este paso tiene como finalidad rodear las muestras en un material suficientemente rígido para poder ser cortadas, como medio de inclusión se usó la parafina. Pero debido a que la parafina no es miscible en agua, se llevó a cabo el proceso llamado deshidratación, en donde se emplean alcoholes de menor a mayor concentración esto es; se colocaron las muestras en alcohol al 50% hasta llegar al 100%, las muestras se deben dejar durante una hora en cada concentración de alcohol. Sin embargo, el alcohol tampoco es miscible en parafina y para ello se realizó el proceso de aclaración, en donde se colocaron las muestras en alcohol + xilol (250 ml. de alcohol con 250 ml. de xilol) durante una hora, después se coloca en xilol tres veces. Todo esto se llevó a cabo en frascos de vidrio. Ya que estuvieron aclaradas se realizó la infiltración del medio de inclusión por toda la muestra; para ello se utilizó el horno del Laboratorio de Morfología de la Facultad de Odontología, UANL, el horno se mantuvo a 60° para que la parafina llegara a su punto de fusión, esto sucede aproximadamente después de 6 horas.

Se colocaron las muestras en los frascos de vidrio con parafina líquida durante tres horas. Después de esto se sacaron los frascos y cada una de las muestras fue cortada por la mitad con la ayuda de una navaja de doble filo, esto basándose en la ubicación del cemento inoculado.

Una vez que todas las muestras fueron cortadas por la mitad, cada una se colocó dentro de un vasito de plástico previamente identificado los cuales contenían parafina, y fueron introducidas al horno durante 1 hora.

Ya transcurrido el tiempo de espera, se sacaron del horno las muestras una por una, para llevar a cabo la orientación de las mismas, esto con la ayuda de pinzas de curación ya que las muestras deberían quedar paralelas una al lado de la otra hasta que la parafina se solidificara a temperatura ambiente.

#### 6.1.4 Obtención de los cortes

Una vez que la parafina solidificara se cortaron los excesos hasta que solo quedara un cubo el cual contenía la muestra.

Después se precedió a realizar los cortes de cada muestra utilizando el micrótopo rotatorio de la marca Microm modelo HM340E, el cual fue facilitado por el Departamento de Inmunología de la Facultad de Medicina, UANL.

En donde mediante una navaja se fueron realizando cortes de 6 micras (figura 14), las cuales una vez que fueron obtenidas se colocaron en un baño de agua destilada a 40° para estirar los cortes, esto con la ayuda de un pincel y pinzas delgadas.

El corte obtenido se recoge del agua con el portaobjeto previamente identificado con el número de muestra, en donde se deja secar para después llevar a cabo las tinciones histológicas necesarias.

### 7.1.5 Tinción del corte Histológico

#### 7.1.5.1 Hematoxilina y Eosina

Para llevar a cabo este procedimiento, cada sustancia a utilizar fue colocada en un recipiente de vidrio previamente identificado.

Figura 17. Recipientes para llevar a cabo las tinciones.

Los portaobjetos se colocaron en una gradilla de vidrio la cual se fue introduciendo en cada uno de las diferentes sustancias, de acuerdo al siguiente orden:

- Xilol durante 10 minutos.
- Alcohol al 100% durante 3 minutos.
- Alcohol al 70% durante 3 minutos.
- Alcohol al 50 % durante 3 minutos.
- Hematoxilina durante 5 minutos (figura 18).

- Enjuague con agua hasta que salga limpia.
- Eosina durante 3 minutos (figura 19).
- Enjuague con alcohol al 70% hasta que este salga limpio.
- Alcohol al 90% por un minuto.
- Alcohol al 100% durante 2 minutos.
- Alcohol-Xilol durante 5 minutos.
- Xilol durante 5 minutos.
- Xilol hasta que las muestras se monten.

#### **6.1.5.2 Tricrómico de Masson**

Como ya se mencionó anteriormente para llevar a cabo este procedimiento, cada sustancia a utilizar fue colocada en un recipiente de vidrio previamente identificado y los portaobjetos se colocaron en una gradilla de vidrio la cual se fue introduciendo en cada uno de las diferentes sustancias, de acuerdo al siguiente orden:

- Xilol durante 10 minutos.
- Alcohol al 100% durante 5 minutos.
- Alcohol al 80% durante 5 minutos.
- Alcohol al 60% durante 5 minutos.
- Alcohol al 50% durante 5 minutos.
- Agua destilada 5 minutos.
- Bouin 1 hora a temperatura ambiente.
- Agua corriente, hasta quitar el exceso de tinción amarilla.
- Agua destilada, realizar 3 cambios.
- Hematoxilina de Weigert durante 10 minutos.
- Agua corriente durante 10 minutos.
- Agua destilada, realizar 3 cambios.
- Escarlata de Biebrich durante 5 minutos.
- Agua destilada, realizar 2 cambios.
- Ácido fosfotúngstico-fosfomolibdico durante 15 minutos.
- Agua destilada, realizar tres cambios.
- Azul de Alanina durante 6 minutos.

- Agua destilada, realizar 3 cambios.
- Ácido acético glacial 1% durante 3 minutos.
- Agua destilada durante 5 minutos.
- Alcohol a 70% durante 3 minutos.
- Alcohol al 96% durante 6 minutos.
- Alcohol al 100% durante 6 minutos.
- Alcohol-Xilol durante 3 minutos.
- Xilol durante 3 minutos.
- Xilol hasta que las muestras se monten.
- 

#### 6.1.6 Montaje de los cortes

Los portaobjetos se retiraron del xilol y se colocaron dos gotas de resina sintética en cada uno (figura 20) para después situar el cubreobjetos sobre el corte (figura 21), una vez que el cubreobjetos estuviera bien situado se retiraron los excesos de resina y se dejaron secar durante 24 horas (figura 22), para poder ser observados en el microscopio electrónico y llevar a cabo la evaluación de las reacciones inflamatorias (Cuadro 1).

#### 6.1.7 Técnica de Inmunohistoquímica

Se realizó de la siguiente manera:

1. Los portaobjetos se colocaron en el horno a 70° aproximadamente durante 5 minutos, hasta que se disolviera la parafina.
2. Se desparafiniza con xilol durante 15 minutos 2 veces.
3. Se coloca en alcohol + xilol (250 ml. de alcohol más 250 ml. de xilol) durante 5 minutos.
4. Hidratar con alcoholes de grado decreciente.
  - Alcohol al 100% durante 5 minutos.
  - Alcohol al 90% durante 5 minutos.
  - Alcohol al 70% durante 5 minutos.
  - Alcohol al 50% durante 5 minutos.

5. Para eliminar la peroxidasa endógena, los cortes se colocan en una solución de 500 ml de Metanol + 4.95 ml. de Peróxido de Hidrógeno al 30% durante 20 minutos.
6. Colocar en alcohol al 50% durante 5 minutos.
7. Lavar con solución Buffer PBS sin tritón pH 7.2 - 7.4 durante 5 minutos.  
Para 2 litros de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Fosfato de Sodio Dibásico (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>): 43.6 gr.  
Fosfato de Sodio Monobásico (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>O): 12.8 gr.
8. Lavar con solución Buffer PBS con tritón pH 7.2 - 7.4 durante 10 minutos. • Para 2 litros de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
  - Fosfato de Sodio Dibásico (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>): 43.6 gr.
  - Fosfato de Sodio Monobásico (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>O): 12.8 gr.
  - Tritón X-100: 2 ml.
9. Lavar con solución Buffer PBS sin tritón pH 7.2 - 7.4 durante 5 minutos.
10. Colocar pap-pen sobre la laminilla alrededor del corte histológico.
11. Incubación de los primeros anticuerpos
  - 11.1 Solución 1:600, se colocaron 1600 µl. de Buffer PBS con tritón en cada de los tres tubos Eppendorf y después se colocó cada anticuerpo (Somatostatina y sustancia P) por separado.
  - 11.2 Se utilizaron un total de 24 laminillas, por lo cual fueron 8 laminillas por cada anticuerpo, en cada laminilla se colocó 160 µl. del anticuerpo utilizado y se dejó incubando por 24 horas a temperatura ambiente.
12. Lavar por separado las laminillas de cada anticuerpo en solución Buffer PBS con tritón pH 7.2-7.4 durante 15 minutos.  
Incubación del segundo anticuerpo (Goat F(ab')<sub>2</sub> Polyclonal secondary antibody to rabbit IgG (Fab')<sub>2</sub> (HRP) pre-adsorbed ab6112, 1.000 mg/ml, liquido marca Abcam, se preparó con 5 ml. de Buffer PBS sin tritón en combinación con 15 µl. del anticuerpo).
13. Se colocó 160 µl. del segundo anticuerpo en cada laminilla (total 24) y se dejó incubar por 2 horas a temperatura ambiente.
14. Lavar por separado las laminillas de cada anticuerpo en solución Buffer PBS sin tritón pH 7.2-7.4 durante 15 minutos.

15. Aplicación del DAB al 0.05% + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 0.04%

- 5 mg. DAB
- 13 µl. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
- 10ml. Buffer sin tritón

15.1 Aplicar 166 µl. en cada laminilla. 15.2 Dejarlo durante 40 a 50 segundos.

16. Lavar con Buffer PBS sin tritón pH 7.2-7.4 durante 5 minutos.

16.1 Contrastar con Hematoxilina de Harris 2 minutos

17. Deshidratar con alcoholes de menor a mayor concentración.

- OH 50% durante 5 minutos.
- OH 60% durante 5 minutos.
- OH 70% durante 5 minutos.
- OH 100% durante 5 minutos.

18. Se coloca en alcohol + xilol (250 ml. de alcohol + 250 ml. de xilol) durante 5 minutos.

19. Aclarar con xilol durante 15 minutos 2 veces.

20. Montaje con resina sintética y cubreobjetos.

Se realizó un conteo morfométrico, en donde se seleccionaron 5 laminillas de Inmunocitoquímica de cada uno de los cementos utilizados y se les realizó un contraste con la tinción de Hematoxilina y así poder distinguir las células positivas a Somatostatina y Sustancia P. Se observaron al microscopio 2 cortes por cada laminilla y en cada uno de los cortes se observaron 5 campos de 400 micras cuadradas, dando como total 10 campos por laminilla y 50 campos por cada cemento, sacando el promedio de células inmunoreactivas positivas a Somatostatina y Sustancia P.

Se utilizó la prueba estadística de t de Student para obtener los valores de P.

ANÁLISIS DE LA INFLAMACIÓN (CUADRO 1 DE RESULTADOS).



## 7. RESULTADOS

### 7.1 Hematoxilina y Eosina / Tricrómico de Masson.

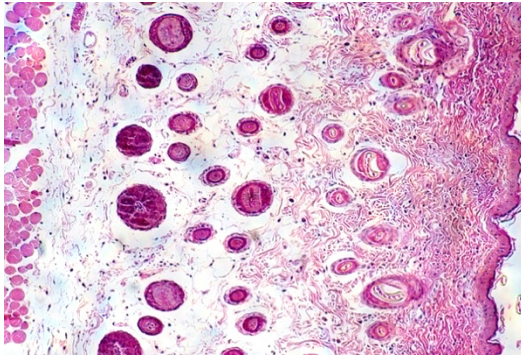
	Cuadro 1. Categorías de las Reacciones Inflamatorias:
Grado I	Sin filtrado inflamatorio
Grado II	Leve filtración de células inflamatorias y ondulados depósitos de fibra de colágeno y fibrosis.
Grado III	Densa filtración de células inflamatorias, áreas limitadas de edema tisular y congestión vascular.
Grado IV	Filtración muy densa de células inflamatorias agudas y crónicas, áreas edematosas generalizadas y congestión vascular junto con depósitos de fibrina.

Tabla No. 1 Grado De Inflamación Presente en los Diferentes Grupos			
Cemento	Tiempo	Hematoxilina & Eosina	Tricrómico de Masson
Control (Suero)	24 Horas	Grado I	Grado I
	7 Días	Grado I	Grado I
MTA	24 Horas	Grado III	Grado III
	7 Días	Grado II	Grado II
Biodentine	24 Horas	Grado II	Grado II
	7 Días	Grado I	Grado I

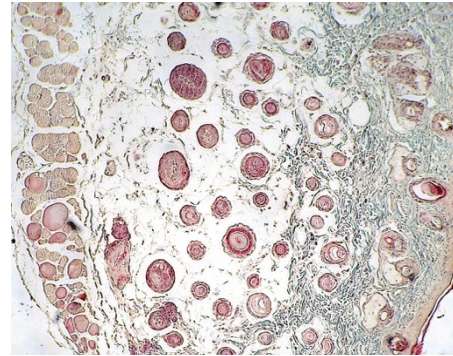
**Imagen No. 1**

**Presencia de Reacción Inflamatoria del Suero (Grp. Control) a las 24 Horas.**

**H & E**



**Tricrómico de Masson**



**Se observa una nula presencia de infiltrado inflamatorio así como tampoco células propias de la inflamación.**

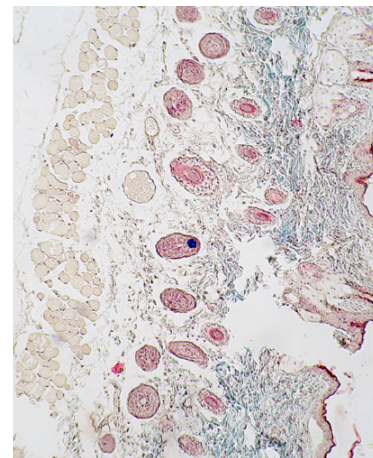
**Imagen No. 1**

**Presencia de Reacción Inflamatoria del Suero (Grp. Control) a los 7 días.**

**H & E**



**Tricrómico de Masson**

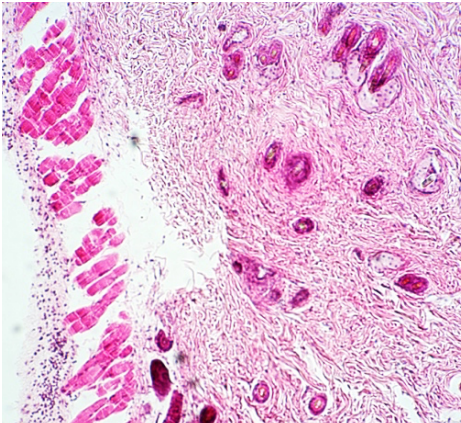


**Se observa una nula presencia de infiltrado inflamatorio, así como tampoco células inflamatorias.**

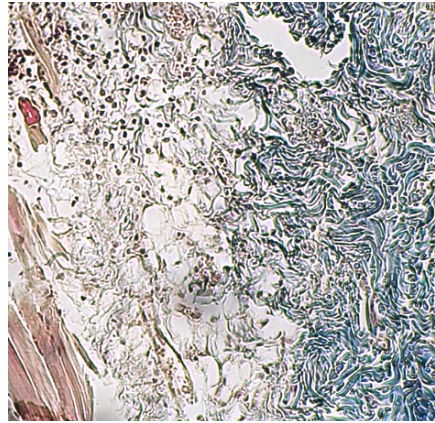
**Imagen No. 2**

**Presencia de Reacción Inflamatoria del MTA a las 24 horas.**

**H & E**



**Tricrómico de Masson**

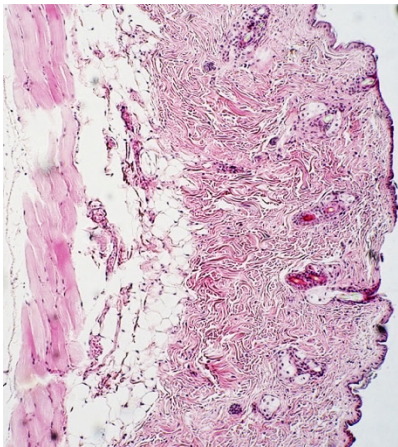


**Se observa una presencia de infiltrado inflamatorio.**

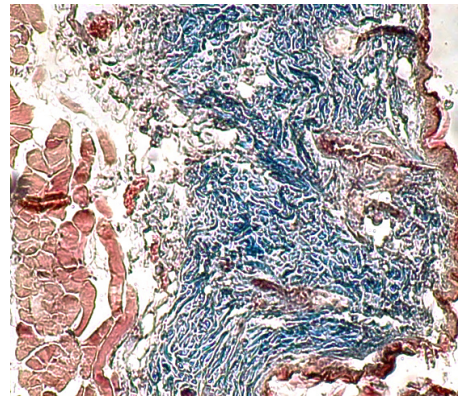
**Imagen No. 2**

**Presencia de Reacción Inflamatoria del MTA a los 7 días.**

**H & E**



**Tricrómico de Masson**



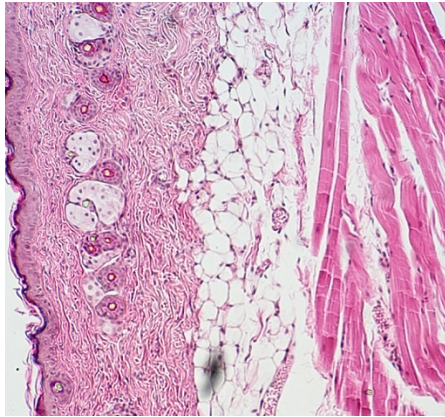
**Se observa una presencia de infiltrado inflamatorio.**



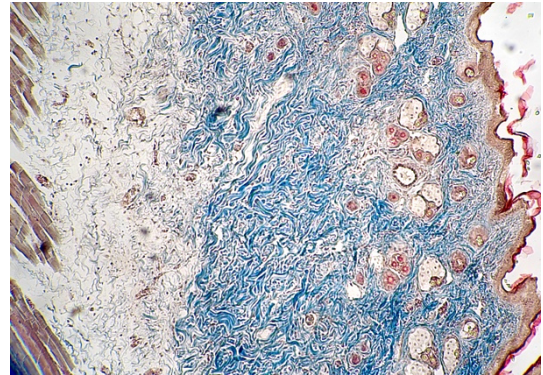
**Imagen No. 3**

**Presencia de Reacción Inflamatoria del Biodentine a las 24 horas.**

**H & E**



**Tricrómico de Masson**

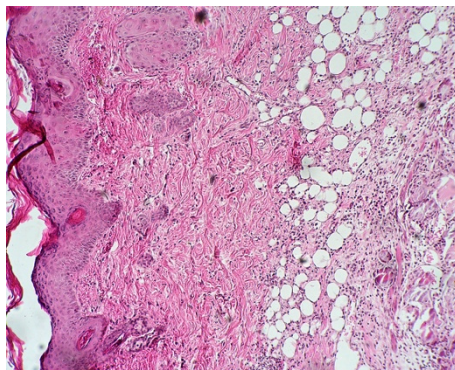


**Se observa una presencia de infiltrado inflamatorio.**

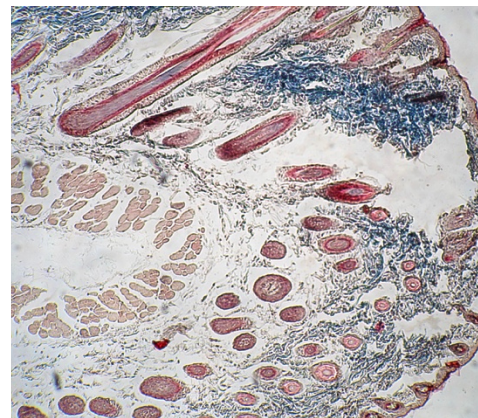
**Imagen No. 3**

**Presencia de Reacción Inflamatoria del Biodentine a los 7 días.**

**H & E**



**Tricrómico de Masson**



**No se observa una presencia de infiltrado inflamatorio.**

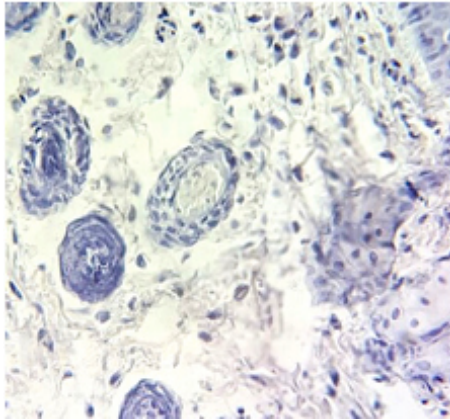
## 7.2 Inmunocitoquímica

<b>Tabla No. 2</b>			
<b>Presencia de Somatostatina y Sustancia P</b>			
<b>Cemento</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Somatostatina</b>	<b>Sustancia P</b>
<b>Control (Suero)</b>	<b>24 Horas</b>	<b>Positivo</b>	<b>Positivo</b>
	<b>7 Días</b>	<b>Positivo</b>	<b>Positivo</b>
<b>MTA</b>	<b>24 Horas</b>	<b>Positivo</b>	<b>Positivo</b>
	<b>7 Días</b>	<b>Positivo</b>	<b>Positivo</b>
<b>Biodentine</b>	<b>24 Horas</b>	<b>Positivo</b>	<b>Positivo</b>
	<b>7 Días</b>	<b>Negativo</b>	<b>Negativo</b>

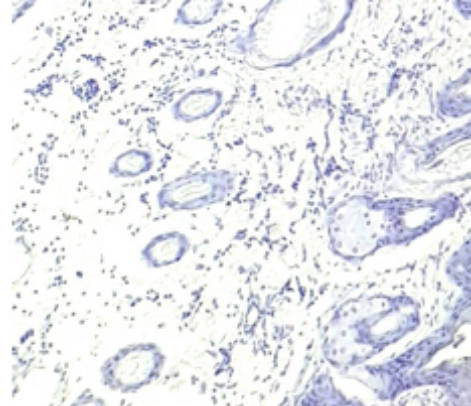
**Imagen No. 4**

**Presencia de células inmunoreactivas a Somatostatina y Sustancia P en el grupo control a las 24 horas.**

**Somatostatina**



**Sustancia P**

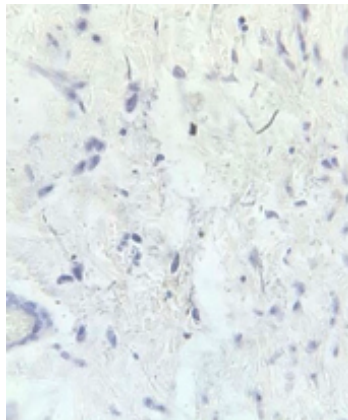


**No se observa en la imagen presencia de células inflamatorias.**

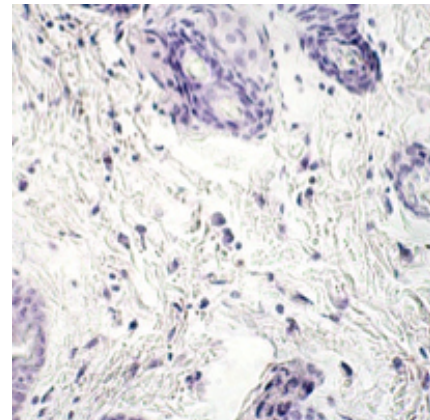
**Imagen No. 4**

**Presencia de células inmunoreactivas a Somatostatina y Sustancia P en el grupo control a los 7 días.**

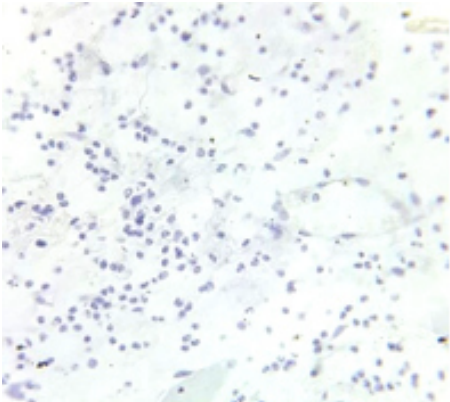
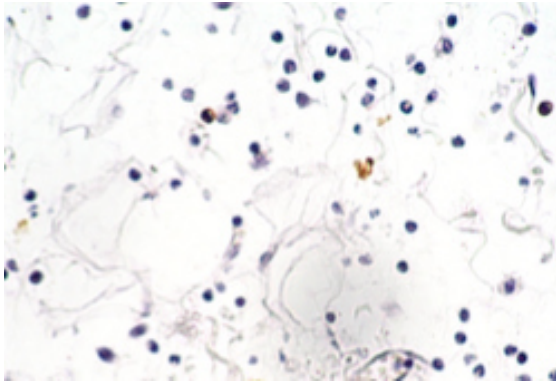
**Somatostatina**

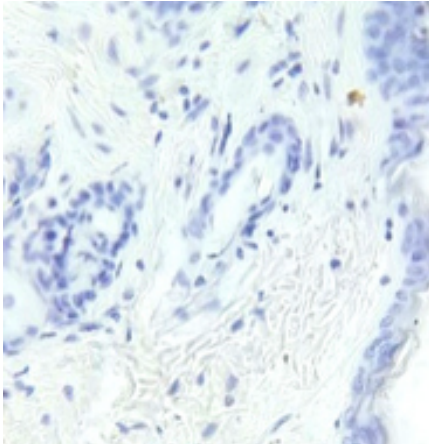
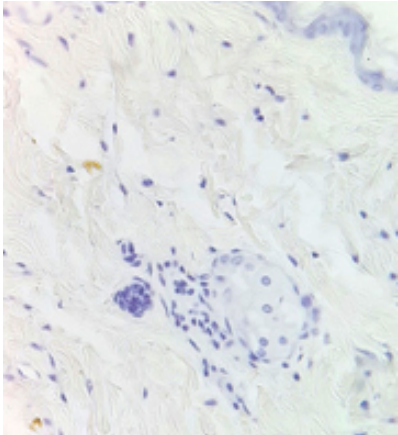


**Sustancia P**

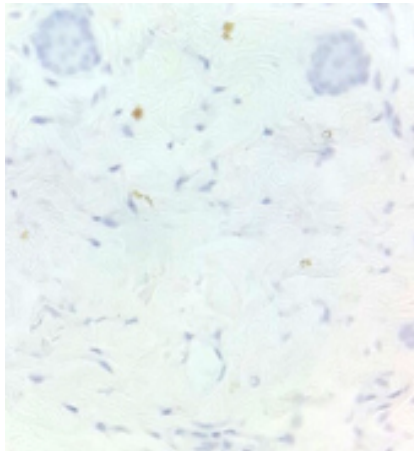
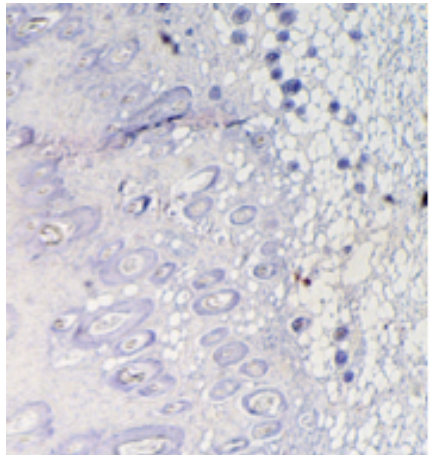


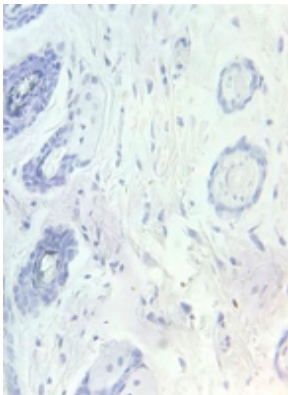
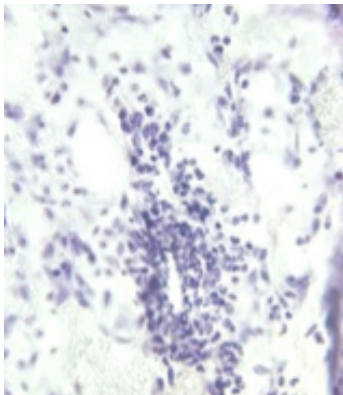
**No se observa en la imagen presencia de células inflamatorias.**

<b>Imagen No. 5</b> <b>Presencia de células inmunoreactivas a Somatostatina y Sustancia P con MTA a las 24 horas.</b>	
<p style="text-align: center;"><b>Somatostatina</b></p> 	<p style="text-align: center;"><b>Sustancia P</b></p> 
<b>Se observa en la imagen presencia de células inflamatorias.</b>	

<b>Imagen No. 5</b> <b>Presencia de células inmunoreactivas a Somatostatina y Sustancia P con MTA a los 7 días.</b>	
<p style="text-align: center;"><b>Somatostatina</b></p> 	<p style="text-align: center;"><b>Sustancia P</b></p> 
<b>Se observa en la imagen presencia de células inflamatorias.</b>	



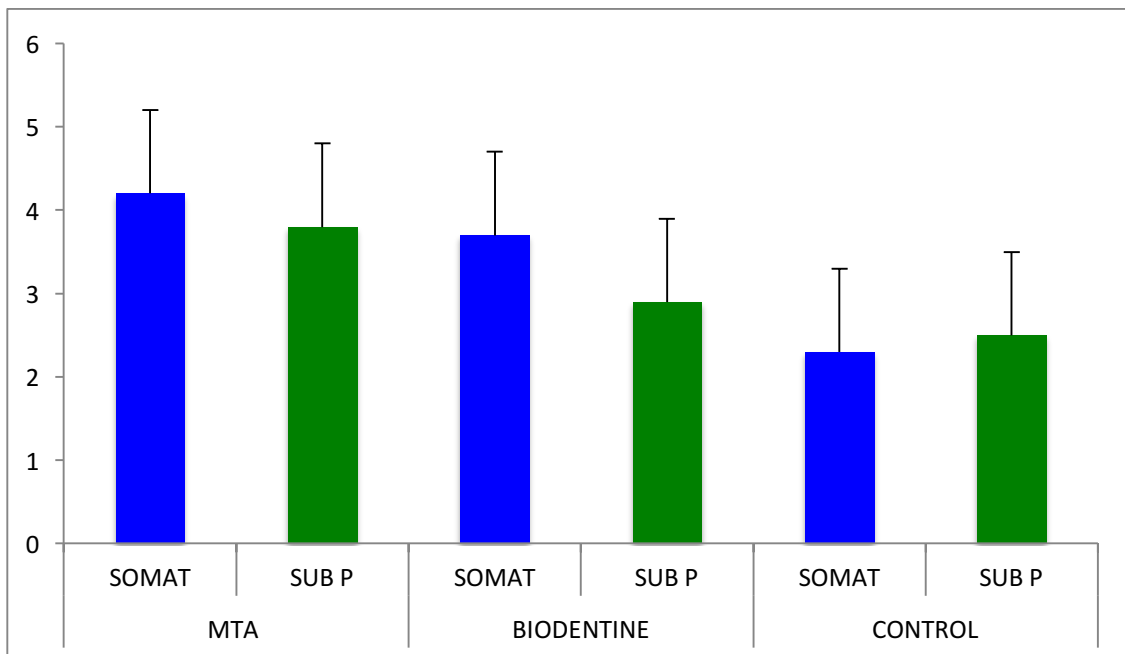
<b>Imagen No. 6</b> <b>Presencia de células inmunoreactivas a Somatostatina y Sustancia P con Biodentine a las 24 horas.</b>	
<p style="text-align: center;"><b>Somatostatina</b></p> 	<p style="text-align: center;"><b>Sustancia P</b></p> 
<b>Se observa en la imagen presencia de células inflamatorias.</b>	

<b>Imagen No. 6</b> <b>Presencia de células inmunoreactivas a las citosinas proinflamatorias Somatostatina y Sustancia P de Biodentine a los 7 días.</b>	
<p style="text-align: center;"><b>Somatostatina</b></p> 	<p style="text-align: center;"><b>Sustancia P</b></p> 
<b>No se observa en la imagen presencia de células inflamatorias.</b>	



## 8. DISEÑO Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para llevar a cabo el análisis estadístico se realizó un conteo morfométrico, en donde se seleccionaron 5 laminillas de Inmunocitoquímica de cada uno de los cementos utilizados y se les realizó un contraste con la Tinción de Hematoxilina y así poder distinguir las células inmunoreactivas. Se observó al microscopio 2 cortes por cada laminilla y en cada uno de los cortes se observaron 5 campos, dando como total 10, y 50 campos por cada cemento, sacando el promedio de células inmunoreactivas a la Sustancia P y Somatostatina. Se empleó la prueba t de Student para analizar diferencias.



La grafica muestra la media y desviación estándar de células inmunoreactivas a los Inmunomoduladores en respuesta a la inoculación de los cementos de sellado apical.

MTA VS CONTROL		BIODENTINE VS CONTROL	
SOMATOSTATINA	SUBSTANCIA P	SOMATOSTATINA	SUBSTANCIA P
$p= 0.0645$	$p= 0.0875$	$p= 0.0756$	$p= 0.275$

La tabla muestra los valores de  $p$  del resultado de pruebas de t de Student. Se analizaron 50 campos de 400 micras cuadradas en cada uno de los casos. De acuerdo a los valores no hay diferencia en la biocompatibilidad de los cementos con respecto al control.

## 9. DISCUSIÓN

Con una técnica diferente en otro tipo de estudio se encontró que Micro-Mega-MTA y BioAggregate mostraron una biocompatibilidad similares, Biodentine era más biocompatible que MM-MTA y BA en la primer semana del experimento. Sin embargo, no hubo diferencias entre los materiales al final de los 45 días (Simsek N et. Al, 2015).

Se evaluó en otro estudio la capacidad de los dos materiales de recubrimiento pulpar a base de silicato de calcio (Biodentine y BioAggregate) para inducir la curación en un modelo de lesión de la pulpa de ratas y compararlos con agregado de trióxido mineral (MTA). Su resultado fue que los materiales de recubrimiento pulpar a base de silicatos de calcio inducen efectos favorables sobre los procesos de reparación durante la terapia pulpar vital y que tanto Biodentine y BioAggregate podrían considerarse como alternativas a ProRoot MTA (Kim J. Et. Al, 2015).

La importancia de la preparación de la cavidad retrógrada y el material utilizado para restaurar es de suma importancia para lograr la endodoncia quirúrgica exitosa. MTA mostró significativamente menos microfiltración cuando se compara con Biodentine y fotopolimerizable GIC y no hay diferencia estadística entre la preparación punta retro ultrasónico y la preparación convencional con broca (Mandava P. Et. Al, 2015).

Se utilizaron tres tipos de cementos a base de silicato: ProRoot MTA (PMTA), Orto MTA (PMTA) y MTA Retro (PMTA). cemento mezclado se colocó en moldes de polietileno con longitudes de 2 y 4 mm. Después de un almacenamiento durante 4 días bajo tres condiciones de almacenamiento diferentes, es decir, solución salina, solución salina después de 5 min de sangre humana, y la sangre humana, se eliminaron los moldes de polietileno. La microdureza superficial se midió usando un medidor de microdureza Vickers, estructura cristalina se analizó por difracción de rayos X (XRD), y las características de la superficie se examinaron con el microscopio electrónico de barrido (SEM). La contaminación con sangre afectada perjudicialmente la microdureza superficie de todos los materiales; Además, entre las muestras de 2 mm, contaminación de la sangre

interfirió con ajuste normal. Por lo tanto, RMTA podría ser una elección más adecuada cuando la contaminación de la sangre es inevitable debido a la limitada profundidad. relevancia clínica RetroMTA podría ser una elección más adecuada en situaciones en las que la contaminación de la sangre es inevitable (Song M., 2015).

Se llevo acabo una intervención quirúrgica donde después de 3 años de realizar un tratamiento de endodoncia la apicectomía y colocación de un cemento sellador fue la mejor opción de tratamiento a seguir (Raedel M, 2015). Sin embargo a nivel de población, la pregunta sigue sin respuesta si otras opciones de tratamiento podrían ser potencialmente más efectivo.

Chalakka en el 2015 logro realizar una evaluación sobre los resultados de un tratamiento después de la apicectomía y apexificación en incisivos centrales superiores no vitales adyacentes con grandes radiotransparencias periapicales, en un niño de 10 años de edad. El paciente se había quejado de la sensibilidad en los incisivos centrales superiores en la masticación y dio una historia de trauma en esos dientes hace tres años. En el examen, no resultaron ser no vital. Apexificación (usando Metapex) y apicectomía (la obturación con gutapercha) se llevaron a cabo los días 11 y 21, respectivamente. Se realizo observaciones radiográficas a los 6 meses, 1 año y 2 años, después de la operación. Encontró una reparación apical que era más favorable después de la apicectomía que apexificación, para un incisivo central superior no vital con con ápice inmaduro.

De igual manera también se han realizado estudios donde se compara la implantación que tiene una carga baja en general y es significativamente menos oneroso durante el hueso y la manipulación de los tejidos blandos que la extirpación quirúrgica de dientes o una apicectomía (Reissmann DR, 2015). Los pacientes pueden ser informados de que la colocación del implante es menos desagradable que otros procedimientos de cirugía oral comúnmente realizados así podemos tener encuentra otros tipos de tratamientos.

Así mismo en un estudio realizado por Torabinejad M en el 2009 descubrió en un estudio una tasa significativamente alta que parece que ofrecer un éxito inicial mas favorable con

una cirugía endodóntica, pero el retratamiento no quirúrgico ofrece un resultado más favorable a largo plazo, lo cual indica que primero debemos intentar realizar el tratamiento de endodoncia.

En un estudio muy parecido a este, después de un análisis de los cortes histológicos se evidencia una presencia no significativa o leve de la reacción inflamatoria en el tejido conectivo de rata en contacto con con MTA, que era diferente del tubo que contiene zinc eugenol óxido. El tejido conectivo se inflama moderadamente a los 7 días, cuando en contacto con Biodentine; sin embargo, a los 14 y 30 días, el proceso inflamatorio era leve o no significativo (Mor G. et., al, 2014). Lo cual concluye que a largo plazo los cementos tiene una alta biocompatibles y no se encuentra una diferencia significativa entre ellos.

## 10. CONCLUSIONES

El presente estudio realizado dentro de esta metodología puede concluir que:

- Biodentine presenta una buena biocompatibilidad, ya que presentaron un leve filtrado inflamatorio mostrado a las 24 horas el cual desapareció al ser comprado con las muestras obtenidas a los 7 días, con esto podemos corroborar que al paso del tiempo ambos cementos no ocasionan alguna reacción inflamatoria persistente.
- Por otro lado el MTA presento un filtrado inflamatorio a las 24 horas de haberse obtenido las muestras, al igual se encontró presencia de células inflamatorias a los 7 días, esto nos indica que el MTA pudiera seguir ocasionando algún tipo de reacción inflamatoria con el paso del tiempo, por lo cual seria recomendado analizar la investigación sobre su biocompatibilidad en un plazo a los 14 y 30 días.
- Tanto Biodentine como MTA presentaron un poco más de células inmunoreactivas a Sustancia P y Somatostatina en comparación con el control, sin embargo estas no fueron estadísticamente significativas, por lo tanto, se puede concluir que los dos cementos son biocompatibles.
- El presente estudio nos demuestra que el cemento sellador Biodentine es un material que puede utilizarse como primera elección para los procedimientos dentales clínicos por su excelente biocompatibilidad, así encontrando una atractiva alternativa al MTA. Sin embargo son necesarios más estudios acerca de su acción bactericida, adhesión (filtrado) y citotoxicidad.

## 11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abou-Rass M, Piccinino MV. The effectiveness of four clinical irrigation methods on the removal of root canal debris. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1982;54(3):323-328.
2. Alaina P. Leiendecker, Yi-Pin Qi, Allen N. Sawyer, Li-Na Niu, Kelli A. Agee, Robert J. Loushine, Roger N. Well, David H. Pashley and Franklin R. Tay, Effects of Calcium Silicate-based Materials on Collagen Matrix Integrity of Mineralized Dentin, *J Endod* 2012;38:829–833.
3. Allen N. Sawyer, Sergey Y. Nikonov, Alaina K. Pancio, Li-na Niu, Kelli A. Agee, Robert J. Loushine, Roger N. Weller, David H. Pashley and Franklin R. Tay, Effects of Calcium Silicate-based Materials on the Flexural Properties of Dentin, *J Endod* 2012;38:680–683.
4. Amer Z. AlAnezi, Jin Jiang, Kamran E. Safavi, Larz S. W. Spangberg and Qiang Zhu, Cytotoxicity evaluation of endosequence root repair material, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010;109:e122-e125.
5. Antonijević D1,2, Milovanović P1, Riedel C2, Hahn M2, Amling M2, Busse B2, Djurić M. Application of reference point indentation for micro-mechanical surface characterization of calcium silicate based dental materials. *Biomed Microdevices.* 2016 Apr;18(2):25. doi: 10.1007/s10544-016-0047-1.
6. Boukpepsi T, Septier D, Goldberg M. VI-2-2-2 Animal studies. In: Goldberg M (ed.) *Biocompatibility or cytotoxic effects of dental composites.* Coxmoor, Oxford 2009. p 200-203.
7. Cambra J., *Manual de Cirugía periodontal, periapical y colocación de implantes,* Harcourt Brace, 1996 Madrid, España, pp. 86, 88, 90.
8. Caronna V., Himel V., Qingzhao Yu, Jian-Feng Zhang, Kent Sabey, Comparison of the Surface Hardness among 3 Materials Used in an Experimental Apexification Model under Moist and Dry Environments, *J Endod.*, Volume 40, Issue 7, Pages 986– 989, July 2014.
9. Casella G, Ferlito S. The use of mineral trioxide aggregate in endodontics. *Minerva Stomatol.* 2006 Mar;55(3):123-43.
10. Cássio J. A. Sousa, Cristiana R. M. Montes, Elizeu A. Pascon, Adriano M. Loyola and Marco A. Versiani, Comparison of the Intraosseous Biocompatibility of AH Plus, EndoREZ, and Epiphany Root Canal Sealers, *J Endod* 2006;32:656–662.
11. Cedillo J., Espinosa R., Curiel R., Huerta A., A new bioactive dentine substitute. Purified Tricalcium Silicate, ROBDY, vol. II, no. 2, Mayo-Agosto 2013.
12. Chalakkal P, Akkara F, Ataide Ide N, Pavaskar R. Apicoectomy versus apexification. *J Clin Diagn Res.* 2015 Feb;9(2):ZD01-3.
13. Christopher F, Carnes L, Carlos E, Rio E. Longitudinal sealing ability of MTA as a root end filling material. *J Endod* 1996;22:575– 8.
14. Ciasca M., Mickel A., G. Jin, A. Aminoshariae, T. Montagnese, A Comparison of the Cytotoxicity and Proinflammatory Cytokine Production of EndoSequence™ Root Repair Material and ProRoot® MTA in Human Osteoblast Cell Culture Using Reverse Transcriptase-PCR, *JOE — Volume 37, Number 3, March 2011.*

15. Cohen S, Burns RC, Endodoncia las vías de la pulpa, 8o edición, 2004; pp. 257-279.
16. Cox CF, Subay RK, Suzuki S, Ostro E. Biocompatibility of various dental materials,
17. Dawood AE, Parashos P, Wong RH, Reynolds EC, Manton DJ. Calcium silicate-based cements: composition, properties, and clinical applications. *J Investig Clin Dent*. 2015 Oct 5.
18. Elnaghy AM, Elsaka SE. Fracture resistance of simulated immature teeth filled with Biodentine and white mineral trioxide aggregate - an in vitro study. *Dent Traumatol*. 2015 Sep 17.
19. Enkel B, Dupas C, Armengol V, Bioactive materials in endodontics, *Expert Rev*
20. Galsterer M., Sykes C., Mickel A., G. Jin, A. Aminoshariae, T. Montagnese, An In
21. Garrido Mori Graziela, Ligia Moraes Teixeira, Danilo Louzada de Oliveira, Larissa Menegucci Jacomini, Sindinéia Rodrigues da Silva, Biocompatibility Evaluation of Biodentine in Subcutaneous Tissue of Rats, *JOE* - Publication stage: In Press Corrected Proof, Published Online: April 24, 2014.
22. Gomes-Filho JE, Watanabe S, Bernabe' PF, de Moraes Costa MT. A mineral trioxide aggregate sealer stimulated mineralization. *J Endod* 2009;35:256–60.
23. Grossman IL, Abu el Naag A, Peled M. Root-end filling materials in apicoectomy--a review. [Article in Hebrew] *Refuat Hapeh Vehashinayim* (1993). 2003 Apr;20(2):49-54, 80.
24. Hauman CH1, Love RM. Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 2. Root-canal-filling materials. *Int Endod J*. 2003 Mar;36(3):147-60.
25. Hausen Willer, B. Briseño Marroquin, I. Willershausen, Biocompatibility of EndoSequence™ and MTA-Based Materials: An In Vitro Analysis, *JOE* — Volume 37, Number 3, March 2011.
26. Jingzhi Ma, Ya Shen, Sonja Stojicic and Markus Haapasalo, Biocompatibility of Two Novel Root Repair Materials, *J Endod* 2011;37:793–798.
27. Jung S, Mielert J, Kleinheinz J, Dammaschke T. Human oral cells' response to different endodontic restorative materials: an in vitro study. *Head Face Med*. 2014 Dec 23;10:55.
28. Kim J, Song YS, Min KS, Kim SH, Koh JT, Lee BN, Chang HS, Hwang IN, Oh WM, Hwang YC. Evaluation of reparative dentin formation of ProRoot MTA, Biodentine and BioAggregate using micro-CT and immunohistochemistry. *Restor Dent Endod*. 2016 Feb;41(1):29-36.
29. Laliz EM, Esain ML, Kokubu GA, Willis J, Chaves C, Grana DR. Rat Subcutaneous tissue response to modified Portland cement, a new mineral trioxide aggregate. *Braz Dent J* 2009;20:112–7.
30. Laurent, J. Camps, and I. About, “Biodentine™ induces TGF- 1 release from human pulp cells and early dental pulp mineralization,” *International Endodontic Journal*, vol. 45, no. 5, pp. 439–448, 2012.
31. Lieblisch SE1. Current Concepts of Periapical Surgery. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2015 Aug;27(3):383-92.
32. Malhotra N, Agarwal A, Mala K. Mineral trioxide aggregate: a review of physical



- properties. *Compend Contin Educ Dent*. 2013 Feb;34(2):e25-32.
33. Malkondu Ö1, Karapinar Kazandağ M2, Kazazoğlu E1. A review on biodentine, a contemporary dentine replacement and repair material. *Biomed Res Int*. 2014;2014:160951.
  34. Mandava P, Bolla N, Thumu J, Vemuri S, Chukka S. Microleakage evaluation around retrograde filling materials prepared using conventional and ultrasonic techniques. *J Clin Diagn Res*. 2015 Feb;9(2):ZC43-6.
  35. Marjorie Zanini, Jean Michel Sautier, Ariane Berdal, Stéphane Simon. Biodentine Induces Immortalized Murine Pulp Cell Differentiation into Odontoblast-like Cells and Stimulates Biomineralization. *Journal of Endodontics*; Sep2012, Vol. 38 Issue 9, p1220-1226.
  36. Martínez Carlos H., Morenos Freddy, Biocompatibilidad, Fundamentos en Biomateriales de uso Odontológico: Aplicaciones en Estética y Cosmética Dental, Colombia Aprende, 2006,1-5.
  37. Moretton TR, Brown CE Jr, Legan JJ, Kafrawy AH. Tissue reactions after subcutaneous and intraosseous implantation of mineral trioxide aggregate and ethoxybenzoic acid cement. *J Biomed Mater Res* 2000;52:528–33.
  38. Mori GG1, Teixeira LM2, de Oliveira DL3, Jacomini LM3, da Silva SR3. Biocompatibility evaluation of biodentine in subcutaneous tissue of rats. *J Endod*. 2014 Sep;40(9):1485-8. Epub 2014 Apr 25.
  39. Nair PN, Duncan HF, Pitt Ford TR, Luder HU, Histological, ultrastructural and quantitative investigations on the response of healthy human pulps to experimental capping with mineral trioxide aggregate: a randomized controlled trial, *Int Endod J* 2008;41:128–50.
  40. Nasseh AA, Brave D. Apicoectomy: The Misunderstood Surgical Procedure. *Dent Today*. 2015 Feb;34(2):130, 132, 134-6.
  41. Özlem Malkondu,1 Meriç Karapinar Kazandağ,2 and Ender Kazazoğlu, A Review on Biodentine, a Contemporary Dentine Replacement and Repair Material, Hindawi Publishing Corporation, BioMed Research International, Volume 2014, Article ID 160951, 10 pages.
  42. Parirokh M., Mirsoltani B., M. Raoof, H. Tabrizchi & A.A. Haghdoust, Comparative study of subcutaneous tissue responses to a novel root-end filling material and white and grey mineral trioxide aggregate, *International Endodontic Journal*, 44, 283–289, 2011.
  43. Patrick Laurent, Jean Camps, Michel De Méo, Jacques Déjou, Imad About, Induction of specific cell response to a Ca<sub>3</sub>SiO<sub>5</sub>- based posterior restorative material; *Dental Materials* 2008 Nov; 24 (11): 1486-1494.
  44. Pradelle-Plasse N, Tran X-V, Colon P. VI-2-1 Physico-chemical properties. In: Goldberg M (ed.) *Biocompatibility or cytotoxic effects of dental composites*. Coxmoor, Oxford 2009. p 184-194.
  45. Pradelle-Plasse N, Tran Xuan-Vin C, Physico-chemical properties of Biodentine, In: Goldberg M, ed. *Biocompatibility or Cytotoxic Effects of Dental Composites*, 1ed. Oxford: Coxmoor Publishing Co; 2009:222.
  46. Raedel M, Hartmann A, Böhm S, Walter MH4. Three-year outcomes of apicoectomy (apicoectomy): Mining an insurance database. *J Dent*. 2015 Oct;43(10):1218-22

47. Reissmann DR1, Pouloupoulos G2, Durham J3. Patient perceived burden of implant placement compared to surgical tooth removal and apicectomy. *J Dent.* 2015 Dec;43(12):1456-61.
48. Rhodes John S., *Advanced Endodontics, Clinical Retreatment and Surgery*, 2006, Taylor and Francis, New York, pp. 147, 184, 185.
49. Ribeiro DA, Duarte MA, Matsumoto MA, et al. Biocompatibility in vitro tests of mineral trioxide aggregate and regular and white Portland cements. *J Endod* 2005;31:605–7.
50. Riberio DA, Sugui MM, Matsumoto MA, Duarte MAH, Marques MEA, Salvidori DMF, Genotoxicity and cytotoxicity of mineral trioxide aggregate and regular and white Portland cements on Chinese hamster ovary (CHO) Cells in vitro, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 2006;101:258–61.
51. Robbins SL, Cortan RS, Kumar V. Pocket compaction to Robbins pathologic basis of diseases, 6th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1991:46 –56.
52. Ryan P. McNamara, Michael A. Henry, William G. Schindler and Kenneth M. Hargreaves, Biocompatibility of Accelerated Mineral Trioxide Aggregate in a Rat Model, *J Endod* 2010;36:1851–1855.
53. Saberi EA, Karkehabadi H, Mollashahi NF. Cytotoxicity of Various Endodontic Materials on Stem Cells of Human Apical Papilla. *Iran Endod J.* 2016 Winter;11(1):17-22.
54. Safavi KE, Spangberg L, Sapounas G, MacAlister TJ. In vitro evaluation of biocompatibility and marginal adaptation of root retrofilling materials. *J Endod* 2010;14: 538–42.
55. Sarkar NK, Caicedo R, Ritwik P, Moiseyeva R, Kavashima I. Physicochemical basis of the biologic properties of mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2005;31:97–100.
56. Schmalz Gottfried, Dorthe Arenholt Bindslev, *Biocompatibility of dental materials*, editorial Espringer, 2009, Alemania.
57. Septodont R&D department Biodentine Active Biosilicate Technology, Scientific File, (pag. 4-33).
58. Septodont, Scientific File, Biodentine Active Biosilicate Technology, Paris 2010, [www.septodontusa.com/sites/default/files/Biodentine-Pulp Capping.pdf](http://www.septodontusa.com/sites/default/files/Biodentine-Pulp%20Capping.pdf), revisado el 17 de Septiembre del 2012.
59. Setzer FC, Shah SB, Kohli MR, Karabucak B, Kim S. Outcome of endodontic surgery: a meta-analysis of the literature--part 1: Comparison of traditional root-end surgery and endodontic microsurgery. *J Endod.* 2010 Nov;36(11):1757-65. Epub 2010 Sep 17.
60. Shahriar Shahi, Saeed Rahimi, Mehrdad Lotfi, Hamid Reza Yavari and Ali Reza Gaderian, A Comparative Study of the Biocompatibility of Three Root-end Filling Materials in Rat Connective Tissue, *J Endod* 2006;32:776 –780.
61. Snyderman R, Goetzel EJ. Molecular and cellular mechanisms of leukocyte chemotaxis. *Science.* 1981; 213: 830-837.
62. Song M1, Yue W2, Kim S, Kim W, Kim Y, Kim JW, Kim E.
63. Torabinejad M, 2009., Corr R, Handysides R, Shabahang S. Outcomes of nonsurgical retreatment and endodontic surgery: a systematic review. . *J Endod.* 2009 Jul;35(7):930-7.

64. Torabinejad M, Chivian N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *J Endod* 1999;25:197–205.
65. Torabinejad M, Parirokh M, Mineral Trioxide aggregate: a comprehensive literature review – part II: sealing ability and biocompatibility properties. *J Endod* 2010, 36, 190–202.
66. Torabinejad M, Pitt Ford TR. Histologic assessment of mineral trioxide aggregate as a root end filling material in monkeys. *J Endod* 1997;23:225– 8. Vitro Biocompatibility Comparison of Commonly Used Retrofill Materials and two New Materials: A MTA/IRM® Mixture and EndoSequence™ Root Repair Material. March 2011.
67. Wang H1, Li D2, Tian Y2, Yu Q2. A retrospective study of 180 cases of apical microsurgery. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2014 Jul;49(7):421-7.
68. Zanini, J. M. Sautier, A. Berdal, and S. Simon, “Biodentine induces immortalized murine pulp cell differentiation into odontoblast-like cells and stimulates biomineralization,” *J Endod* 2012, vol. 38, no. 9, pp. 1220–1226.
69. Zmener Osvaldo, Dr Odont, Ricardo Martinez Lalis, Cornelis H. Pameijer, Carolina Chaves, Gabriel Kokubu and Daniel Grana, Reaction of Rat Subcutaneous Connective Tissue to a Mineral Trioxide Aggregate–based and a Zinc Oxide and Eugenol Sealer, *J Endod* 2012;38:1233–1238.